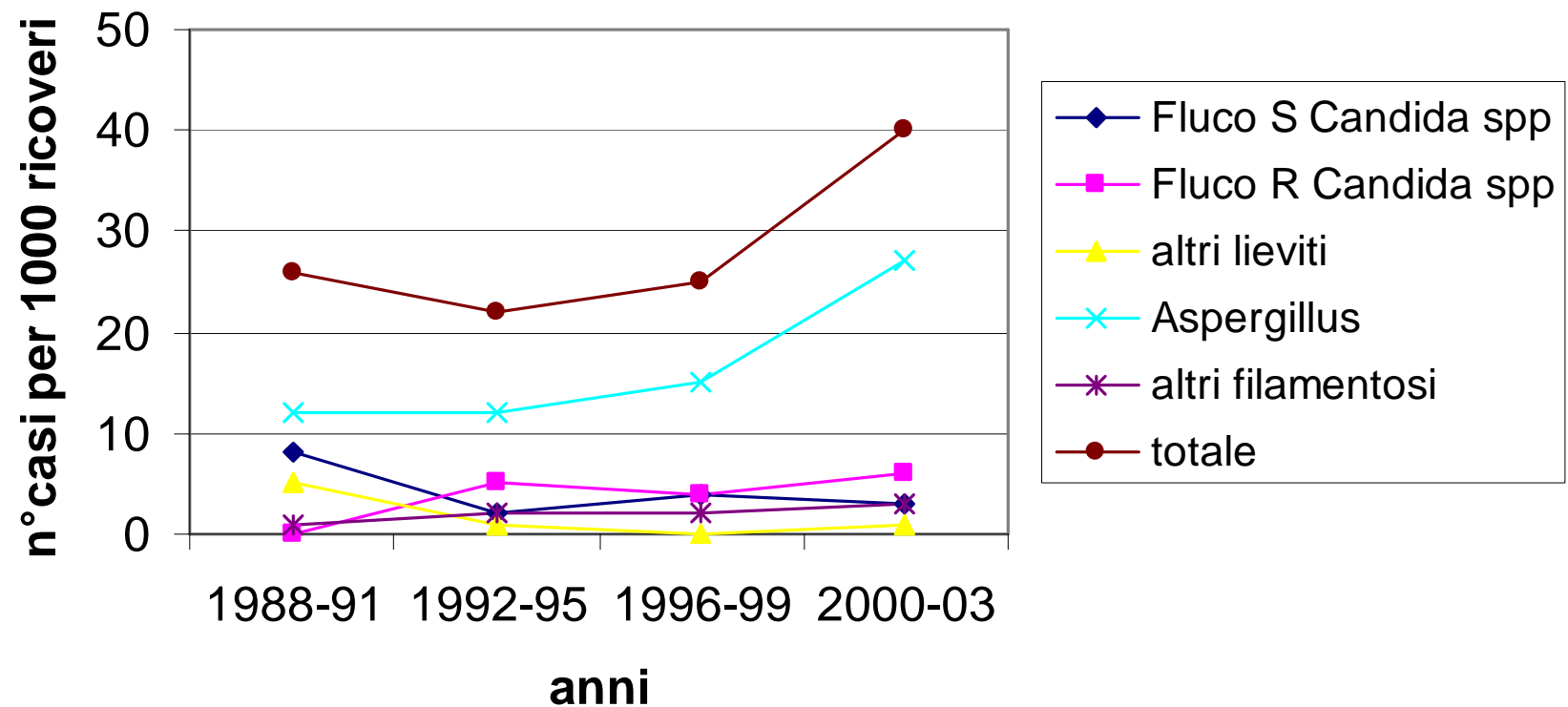
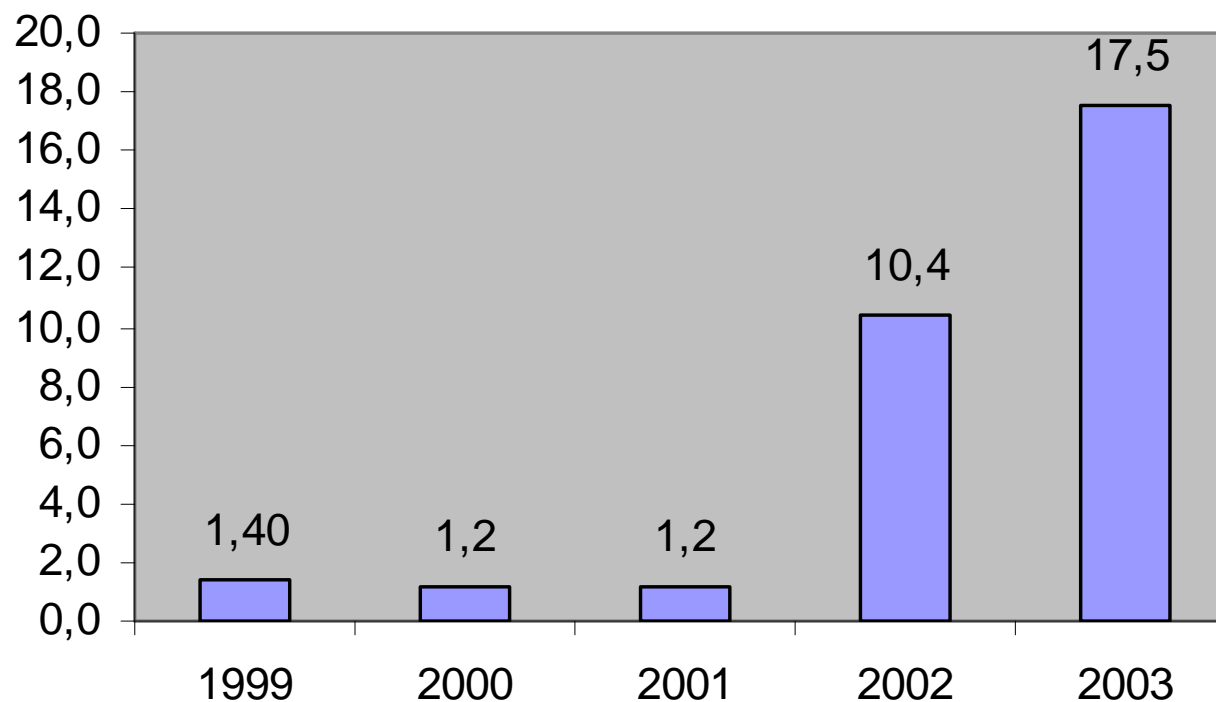
Struttura dei miceti e loro riproduzione

Trend in fungal infection (proven and probable) in haematologic service - Valencia

Epidemiologia

Sanz Alonso M.A. et al. CMI 2006. 12 (suppl 7):2-6

Candidemie nel triennio '99-2001 nell'Ospedale policlinico

Generalità sui
funghi

FUNGHI

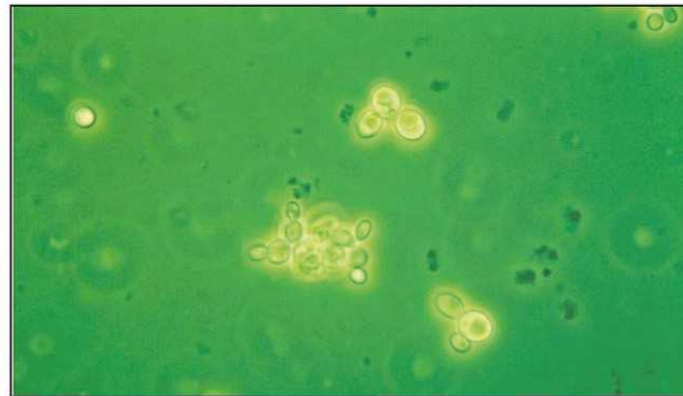
- ~400,000 specie conosciute
- Meno di 500 associate a malattia nell'uomo
- ~100 specie in grado di causare infezioni in individui normali, il resto in immunocompromessi
- Ubiquitari, sono diffusi in natura (aria, acqua, suolo, rifiuti organici in decomposizione)

FUNGHI

Hanno parete cellulare rigida (glucano e chitina)

- Anaerobi facoltativi/aerobi stretti
- Eterotrofi, cioè non hanno clorofilla e sono obbligati a utilizzare sostanze organiche di altri organismi viventi, si nutrono per assorbimento
- Fissano la CO_2 ma non possono utilizzarla come unica fonte di carbonio

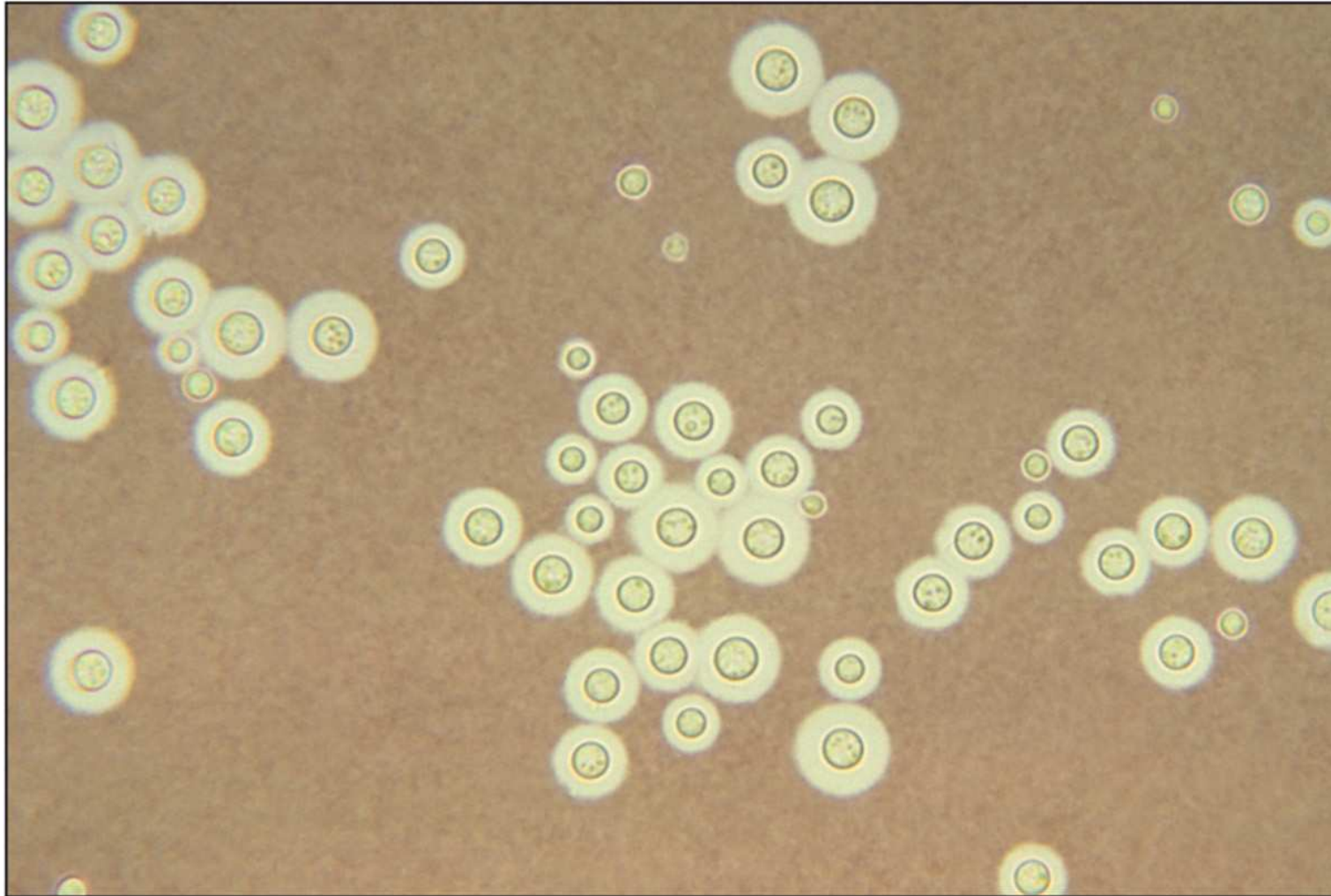
FUNGHI

- Hanno struttura più semplice di piante e animali, non esiste divisione in organi o tessuti
- L'unità di base può essere una singola cellula indipendente (lievito) o una catena di cellule tubulari (ife).

A
B

Funghi- Classificazione Morfologica

- Lieviti
- Funghi filamentosi
- Dimorfici

LIEVITI

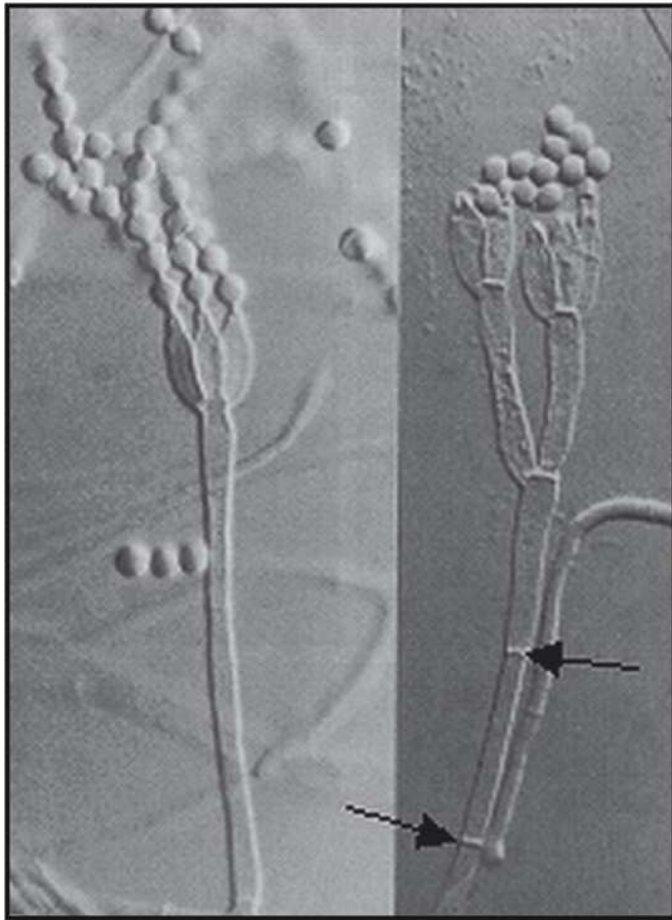
- Unicellulari
- Micr.: Ovali o rotondeggianti (Dia: 3-15 μm)
  Si riproducono per gemmazione
  Blastospore
  Pseudoife
- Macr.: Colonie pastose
  (somigliano ai batteri)

Funghi filamentosi

- Pluricellulari, complessi, hanno numerose strutture specializzate con funzioni specifiche.
- **Tallo (corpo vegetativo di un fungo)** è massa di ife ramificate chiamata MICELIO.
- Si differenzia in:
  - MICELIO VEGETATIVO
  - MICELIO AEREO O RIPRODUTTIVO

Funghi filamentosi

Ifa(e) (dia: 2-10 μm), unità strutturali che contengono citoplasma, organelli citoplasmatici e nucleo.

Setti: separano due o più cellule, formati da parete e membrana cellulare, hanno pori che permettono il passaggio di citoplasma e organelli fra le cellule.

Ife cenocitiche: non hanno setti (tipiche di mucorales)

A

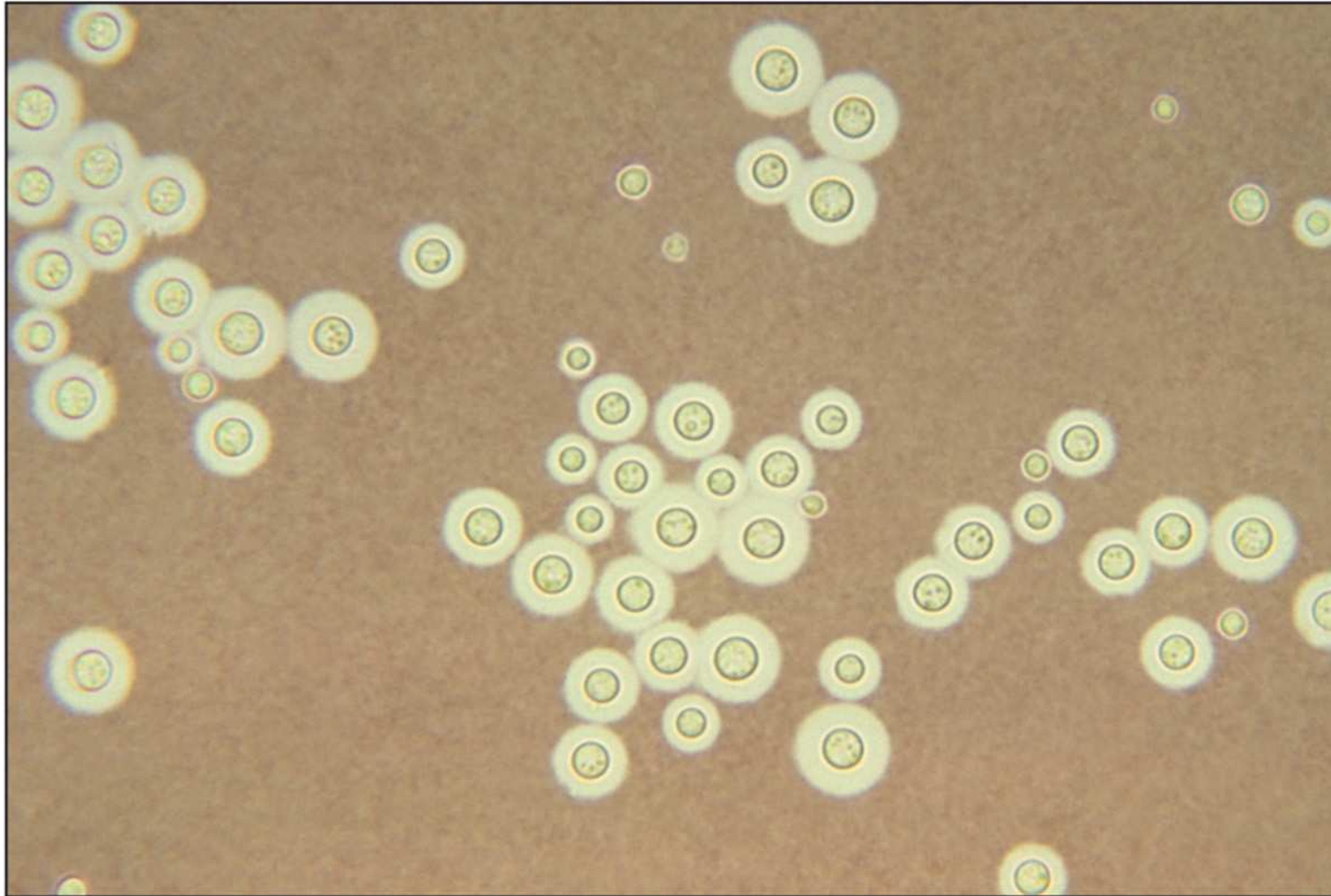
B

DIMORFICI

- Dimorfismo è una caratteristica dei funghi che crescono nell'ambiente e in laboratorio (a 30°C) come muffe e sotto forma di lievito nei tessuti (37°C).
- Veri Dimorfici: gruppo di funghi patogeni responsabili di micosi sitemiche (*Histoplasma, Blastomyces, Coccidioides e Paracoccidioides, Sporothrix schenckii).*

Riproduzione dei funghi

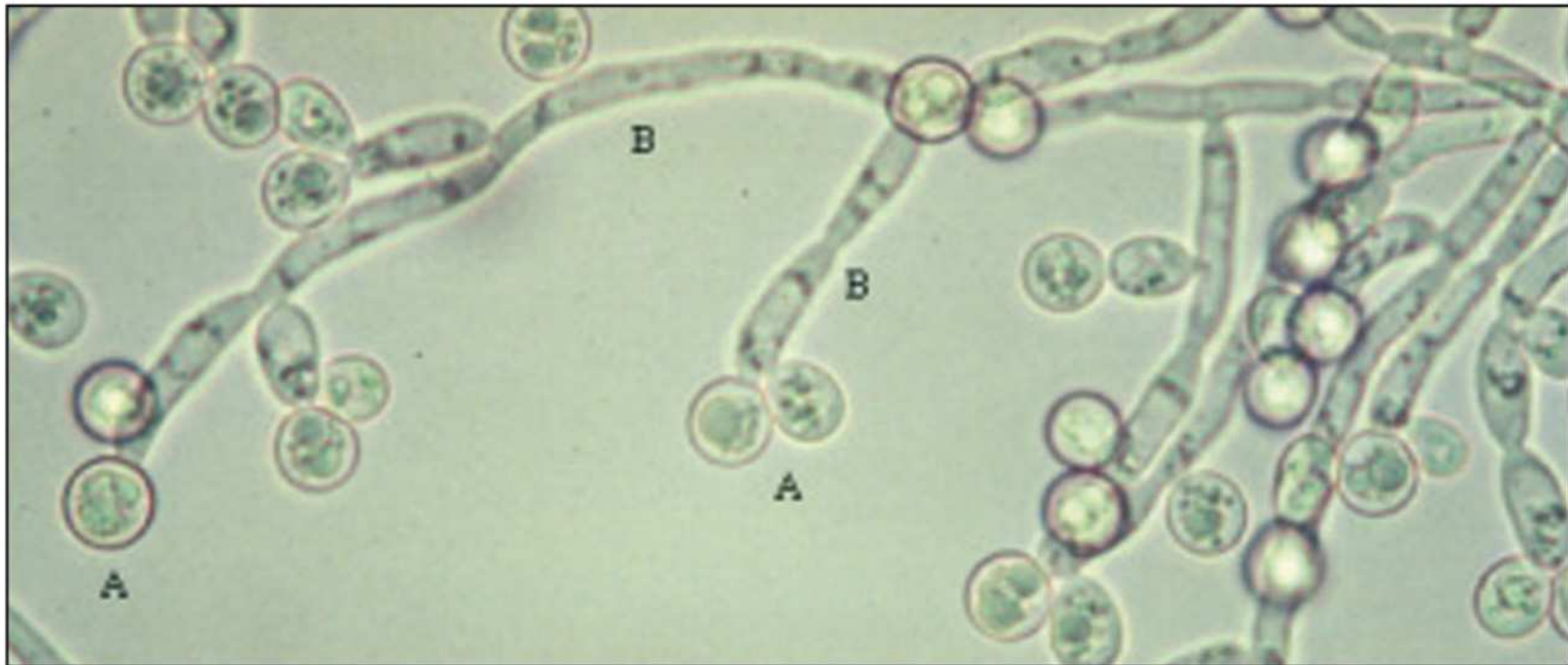
Riproduzione dei funghi

- I lieviti si riproducono mediante **gemmazione**, emettono cellule simili dalla loro superficie

Riproduzione dei funghi

- I lieviti si riproducono mediante **gemmazione**, emettono cellule simili dalla loro superficie
- ..oppure **scissione binaria** come i batteri

Riproduzione dei funghi

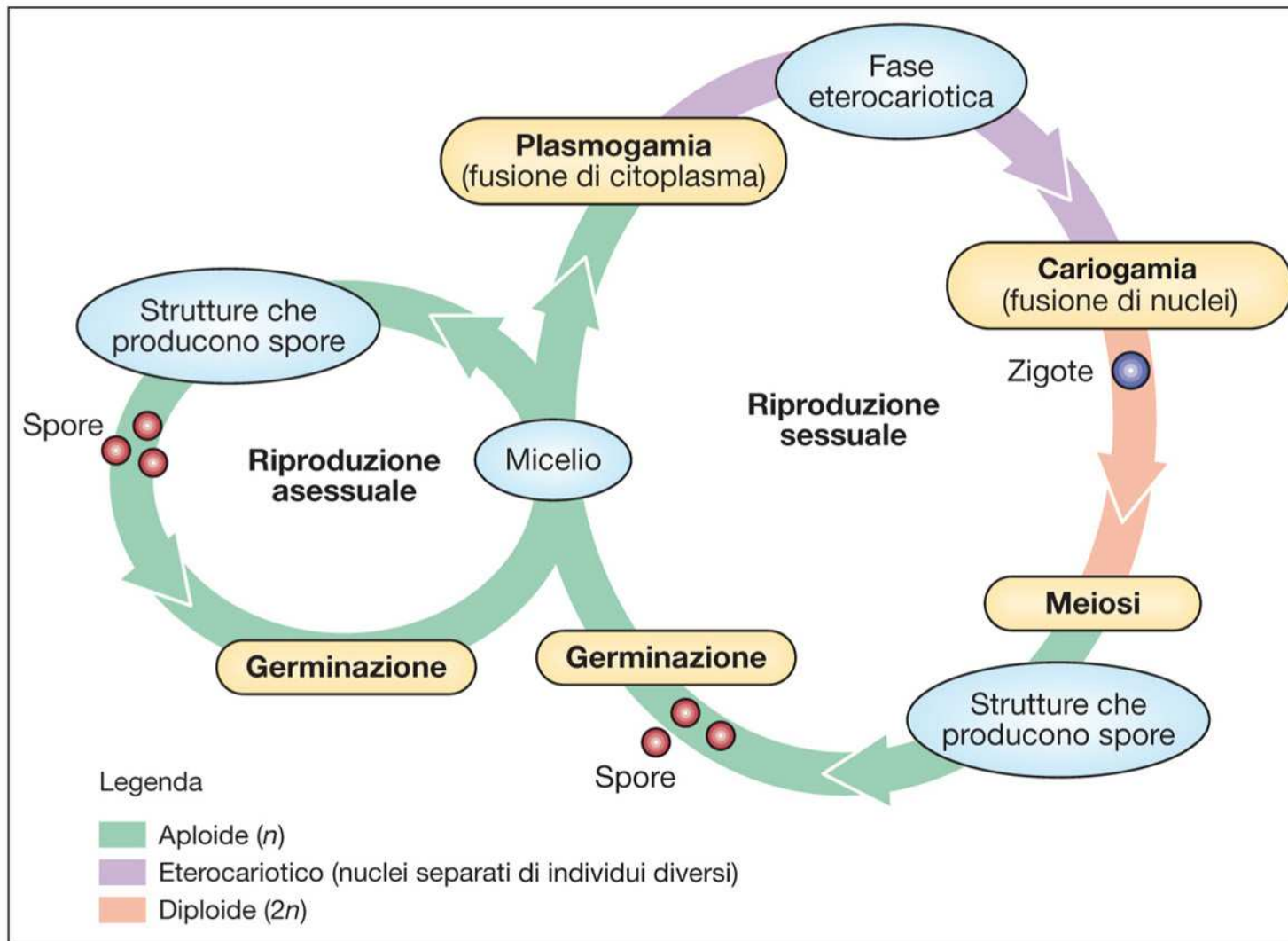
- La gemma può staccarsi o rimanere attaccata alla cellula madre, producendo a sua volta una gemma. Si ha così una catena di cellule.
- In qualche caso l'allungamento protratto della cellula madre prima della sua gemmazione genera una catena di cellule allungate, detta
  - **PSEUDOIFA**

B
B
A
A

Funghi filamentosi

Conidi e Spore: strutture riproduttive asessuate e sessuate.

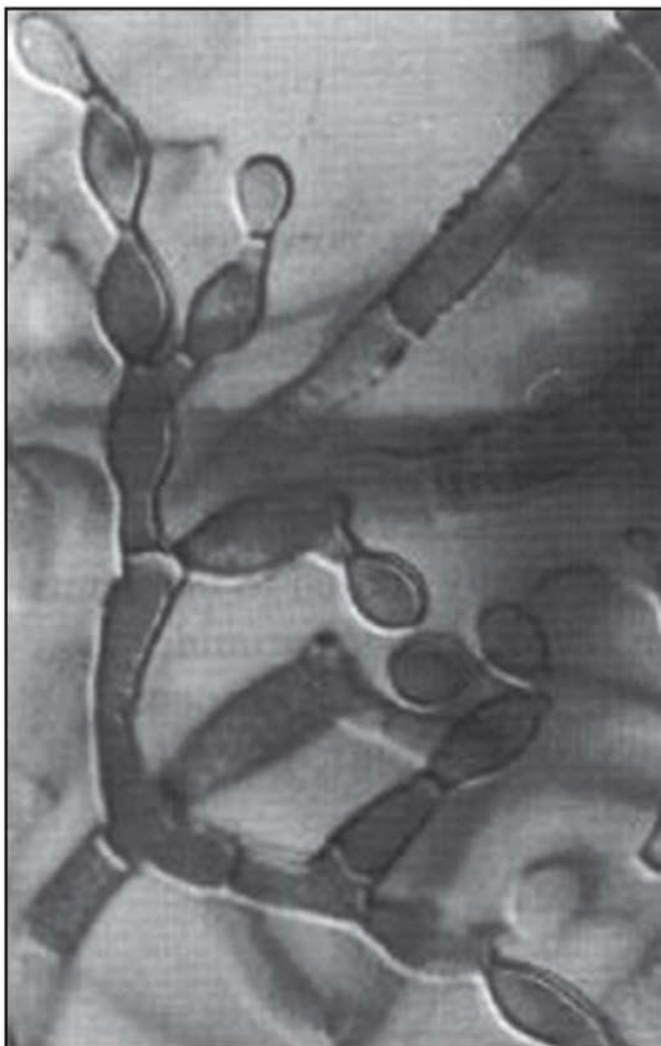
Le spore asessuali sono prodotte in gran quantità per assicurare la dispersione del microrganismo (conidi).

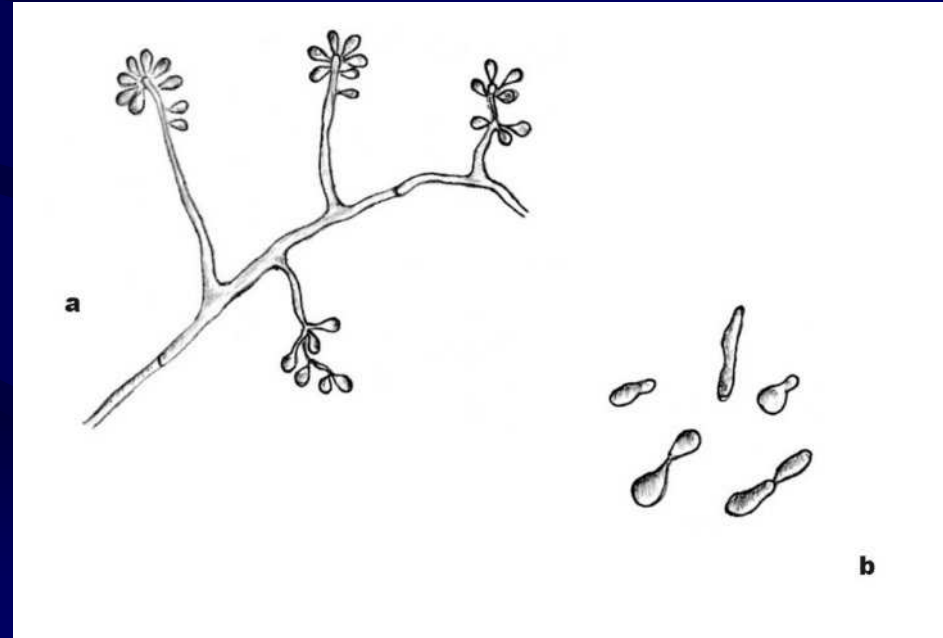
La riproduzione sessuale richiede la formazione di spore sessuali (+ o -). Se vengono formate sulla stessa colonia sono dette OMOTALLICHE, se invece è necessario che due differenti ceppi vengano a contatto per l'accoppiamento, allora la specie viene definita ETEROTALLICA.

Fase
eterocariotica
Plasmogamia
(fusione di citoplasma)
Cariogamia
(fusione di nuclei)
Strutture che
producono spore
Zigote
Riproduzione
sessuale
Spore
Riproduzione
asessuale
Micelio
Meiosi
Germinazione
Germinazione
Strutture che
producono spore
Spore
Legenda
Aploide (n)
Eterocariotico (nuclei separati di individui diversi)
Diploide (2n)

Riproduzione asessuata dei funghi

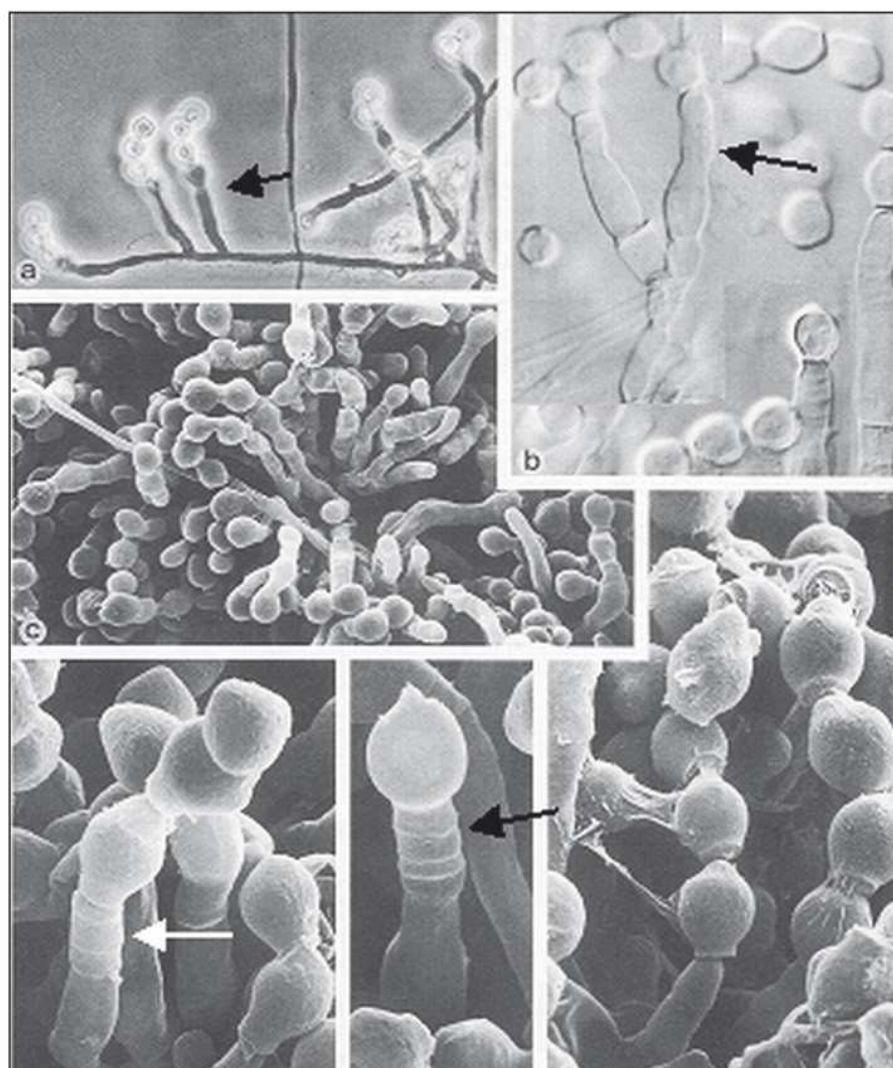
- **Conidiogenesi** è meccanismo con cui vengono prodotti i conidi
  - - **blastica**
  - - **tallica**

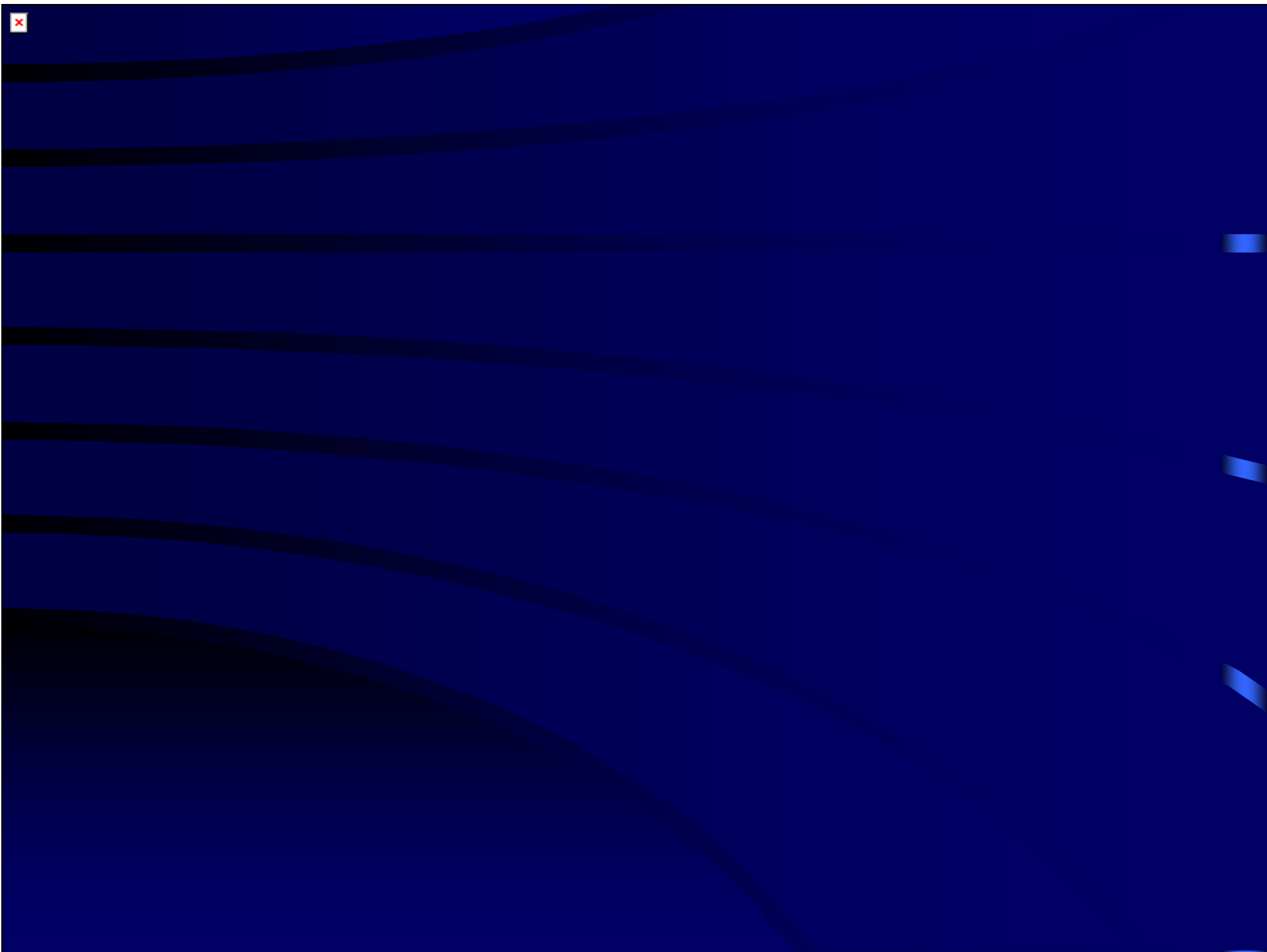
Conidiogenesi blastico-acropetala

- Conidi in catene mediante gemmazione apicale, con la gemma più giovane all'estremità della catena.

Conidiogenesi blastico-simpodiale

- Produzione successiva di conidi caratterizzati dalla crescita protratta (simpodiale) della cellula conodiogena a un lato della base del conidio.

Conidiogenesi blastico-anellidica

- Conidi lasciano cicatrice a forma di anello attorno alla cellula conidiogena (anellide), che cresce attraverso la cicatrice per produrre il successivo conidio. Ciascuna spora dà luogo a cicatrice anulare.

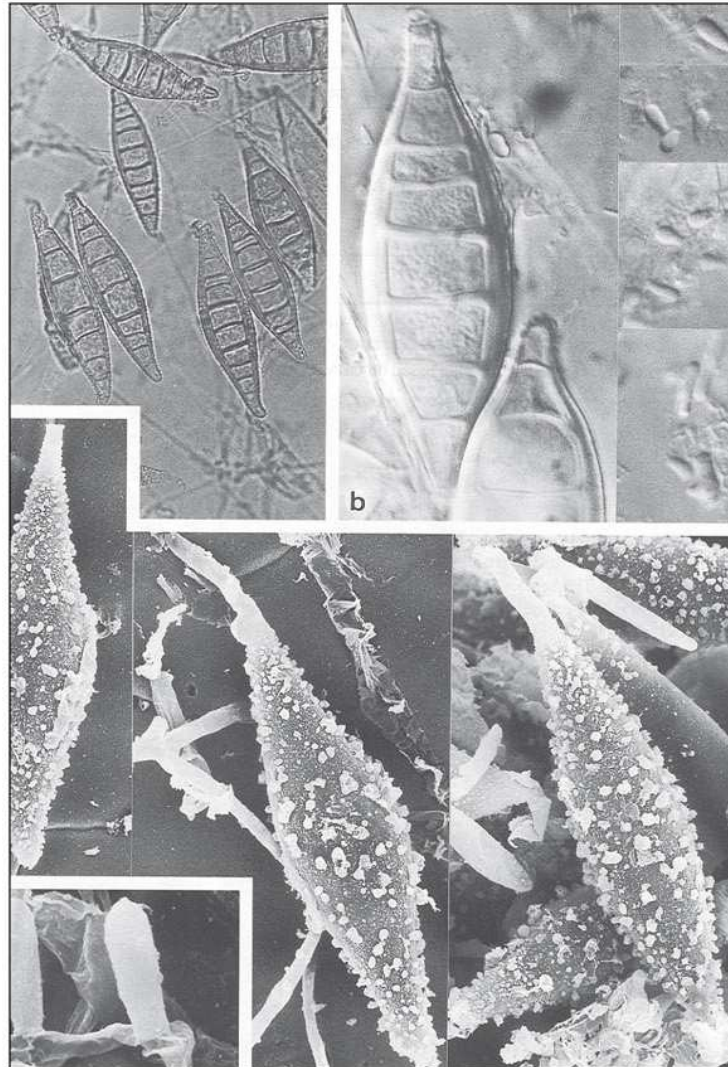
a
b
c

Conidiogenesi blastico-fialidica

- Conidi prodotti in successione dall'estremità aperta di una cellula conidiogena, generalmente a forma di fiasca, detta **FIALIDE**

Conidiogenesi tallico-artrica

- L'estremità dell'ifa termina di allungarsi, si divide in corti frammenti che si dividono per via schizolitica. Il risultato è una catena di "artroconidi" cilindrici che si disarticolano e quindi appaiono snodati

Conidiogenesi tallico-solitaria

- All’estremità delle ife si producono grandi conidi con due o più setti, che poi vengono liberati.

b

Classificazione

Regno: Funghi

Phylum: *Ascomycota*

Classe: *Ascomycetes*

Ordine: *Onygenales*

Famiglia: *Onygenaceae*

Genere: *Ajellomyces*

Specie: *Ajellomyces capsulatus*

Varietà: tale stato si applica all'anamorfo:

Histoplasma capsulatum var. *capsulatum*, *H. capsulatum* var. *duboisii* e *H. capsulatum* var. *farciminosum*

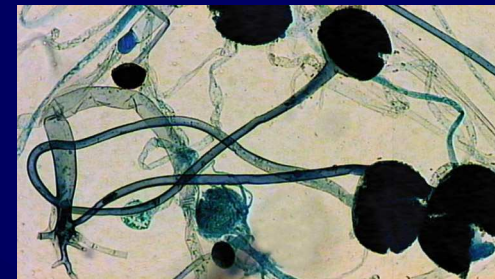
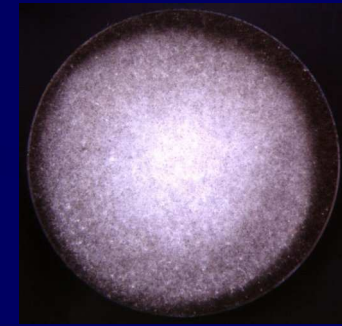
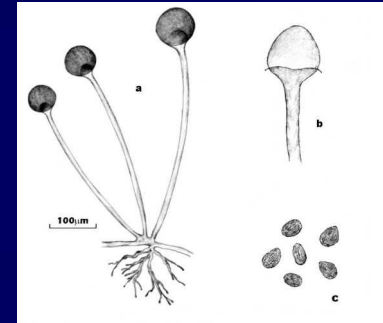
Funghi-Classificazione Tassonomica

- Dipende principalmente dal tipo di spore sessuali

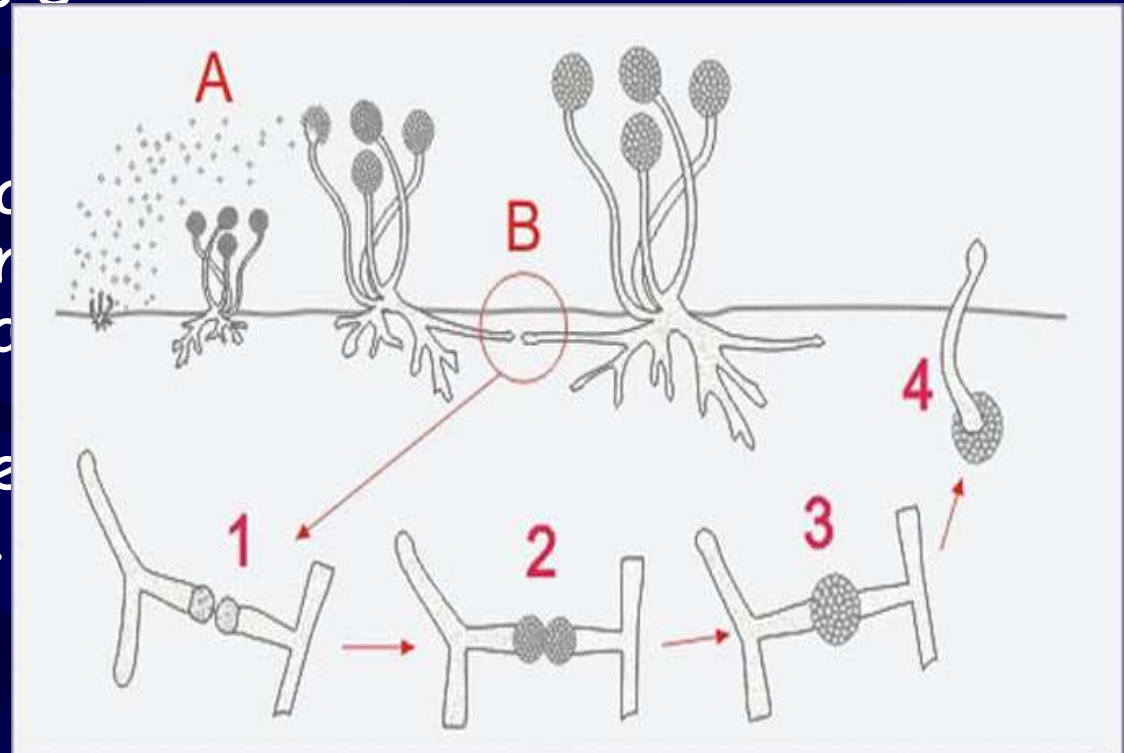
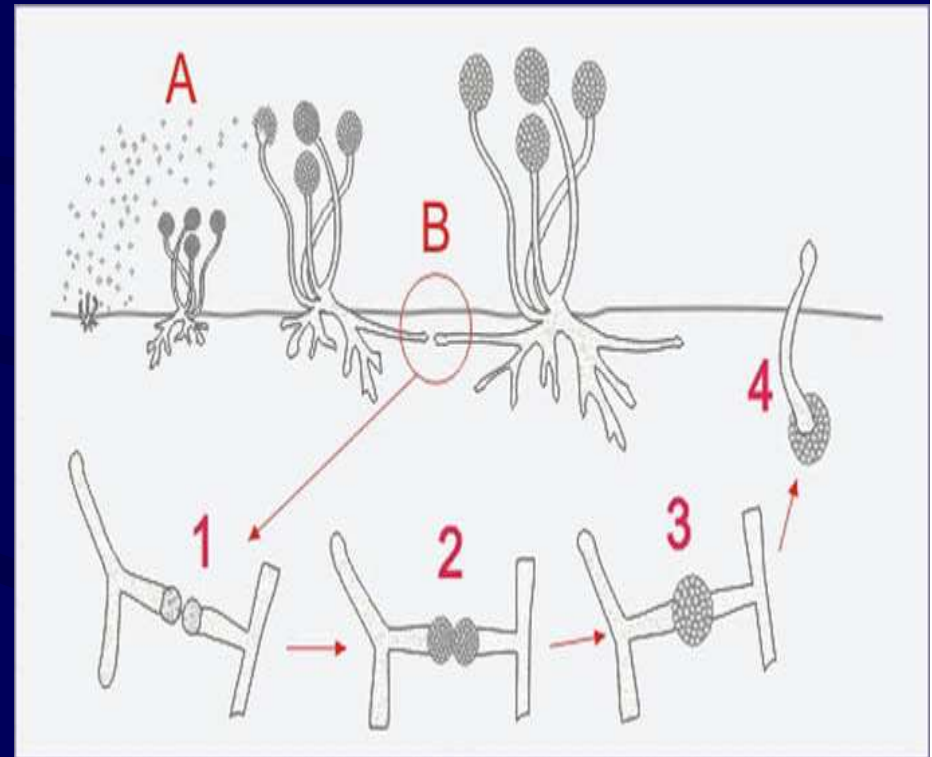
Zigospore----------Zigomiceti
Basidiospore--------Basidiomiceti
Ascospore----------Ascomiceti
Sconosciuta--------Deuteromiceti
("Funghi Imperfetti")

Zygomicota

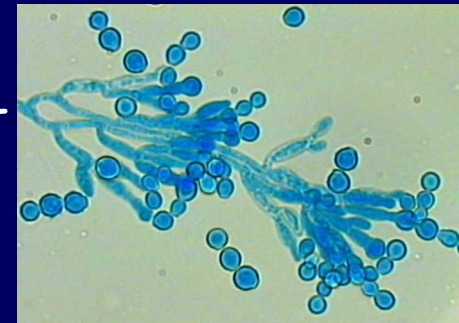
- Circa 175 generi e 1000 specie.
- Producono zigospore

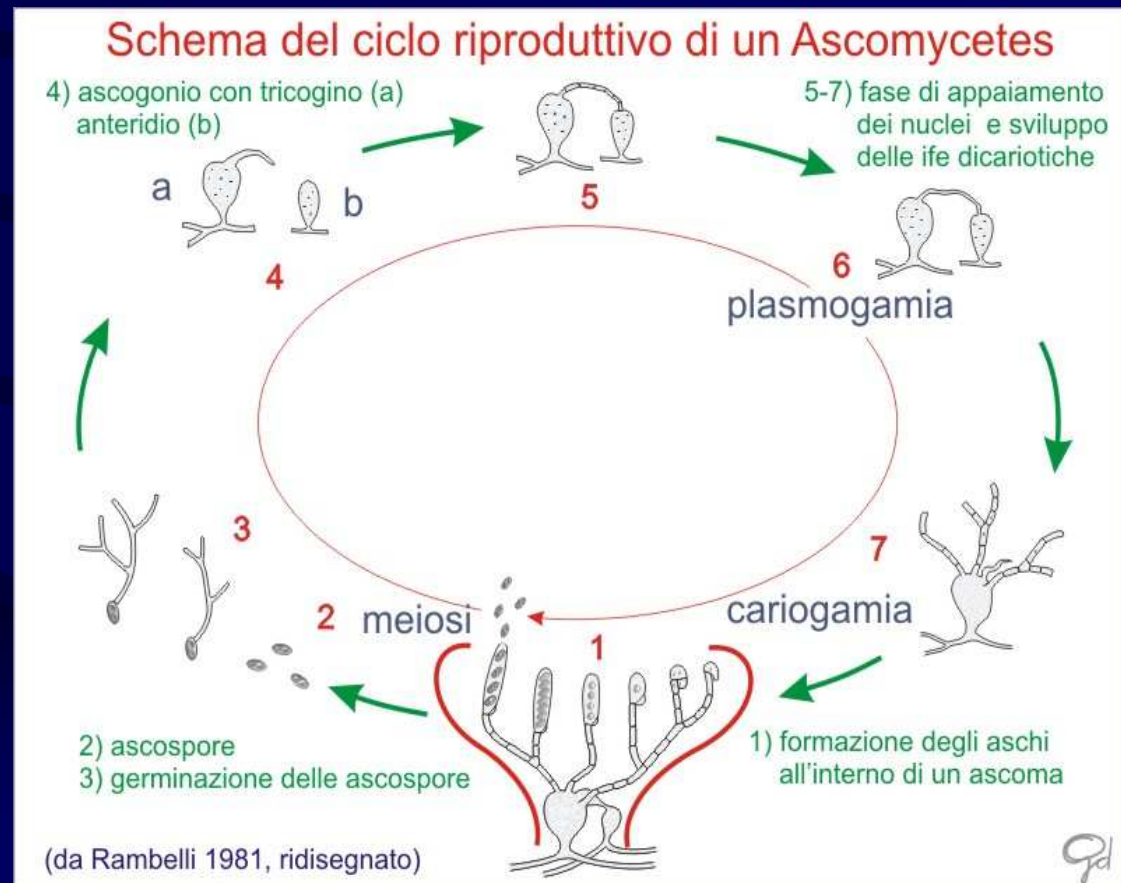
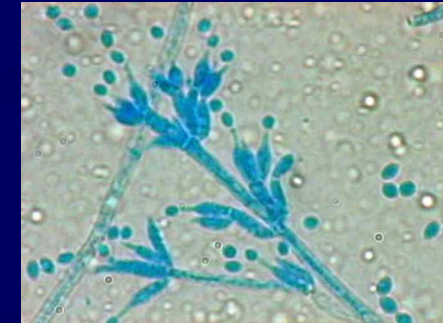
Ha due classi: Trichomicetes e Zygomicetes che comprende due ordini, uno dei quali è dei Mucorales, a cui appartengono i generi Rhizopus, Absidia, Mucor e Rhizomucor

- Gli Zigomiceti hanno distribuzione ubiquitaria, sono a rapida crescita e sono termotolleranti.
- Il loro *habitat* è costituito dal terreno.
- Alcune specie possono infettare altri miceti, così come animali e piante. Possono essere isolati, in grande quantità, dal terreno e da matrici organiche in decomposizione. Le loro spore possono ritrovarsi nell'aria circostante.
- Alcuni generi, quali *Rhizopus*, *Absidia* e *Mucor*, sono largamente diffusi in depositi di frutta, vegetali e cereali. Sono utilizzati, quali *promoter*, in processi di fermentazione alimentare (tempe, sufu) e nella produzione di acidi organici.

Riproduzione degli zigomiceti

- Il tallo è cenocitico e produce isogameti; parete cellulare è composta da chitina chitosano. La fusion della parete cellula (plasmogamia) permette la fusione nuclei (cariogamia).

- Si forma quindi lo zigote che ispessendosi forma la Zigospora. Da questa struttura diploide si ha la divisione meiotica. Dopo un periodo di quiescenza la zigospora si rompe e germina formando sporangioforo che produce terminalmente uno sporangio che darà vita alle sporangiospore che liberate daranno vita a nuovi talli.

Ascomycota

- 3200 generi, e circa 32.000 specie
- Funghi a tallo settato che si riproducono per ascospore contenute in una struttura a forma di sacco, chiamata asco.
- (Pneumocystis, Pseudallescheria, Candida)

- saprofiti nell'ambiente, diffusi nel terreno, nell'aria, nei detriti vegetali, e talora in grado di comportarsi come autentici patogeni per le piante (fitopatogeni). Alcuni di questi miceti, ed in particolare quelli appartenenti al genere *Aspergillus*, possono essere isolati - come contaminanti - da campioni clinici.
- Oltre ad un incremento significativo delle infezioni sostenute dai miceti del genere *Aspergillus*, si é recentemente registrato un aumento notevole dell'incidenza di infezioni causate da altre specie fungine ialine, considerate in passato esclusivamente di interesse ambientale e, in quanto ritenute prive di potere patogeno,
- interpretate quali occasionali contami-
- nanti di laboratorio.

Riproduzione degli ascomiceti

- Il tallo settato, produce strutture specializzate, eterogameti, solitamente dette anteridio e ascogonio. Queste si uniscono nella formazione di un "asco o sacculo".

Schema del ciclo riproduttivo di un Ascomycetes

4) ascogonio con tricogino (a)
anteridio (b)

a
b
4
5

5-7) fase di appaiamento
dei nuclei e sviluppo
delle ife dicariotiche

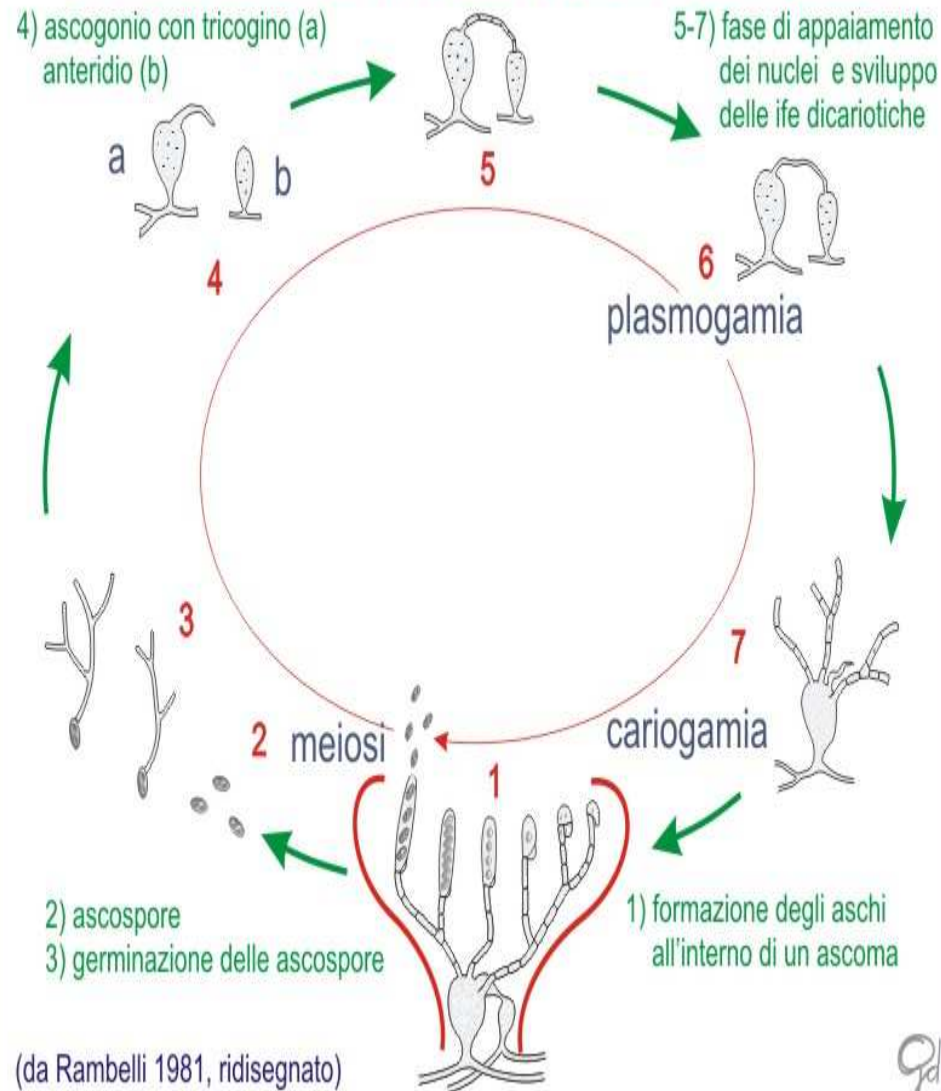
6
plasmogamia

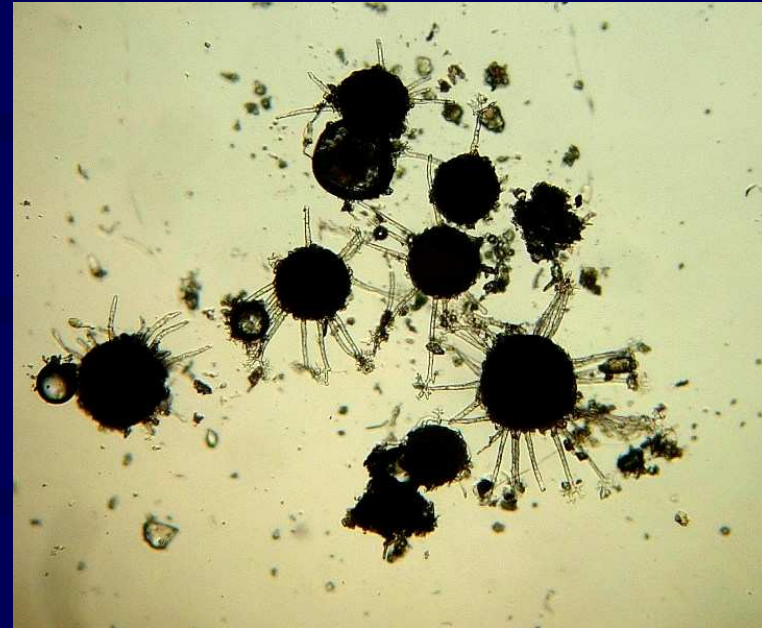
7
cariogamia

1
2 meiosi
3

1) formazione degli aschi
all'interno di un ascoma

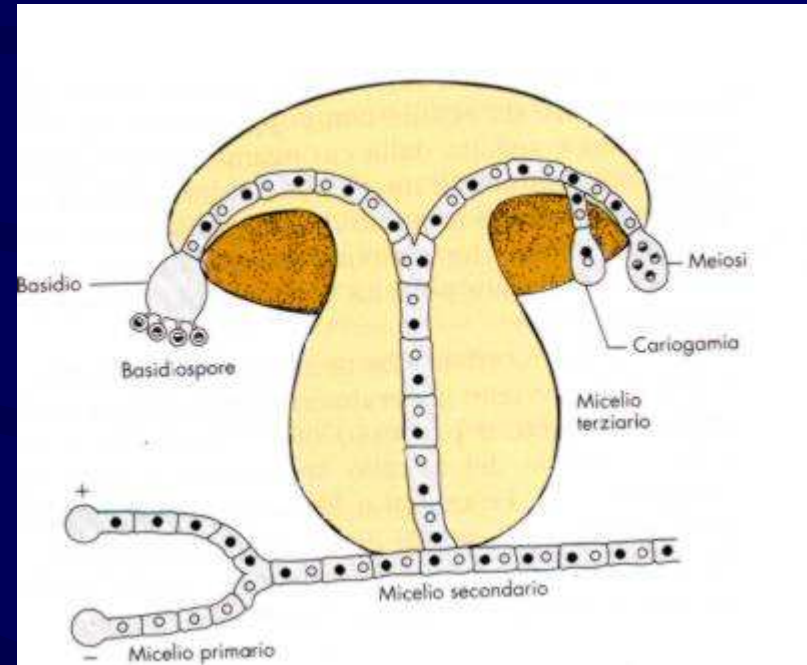
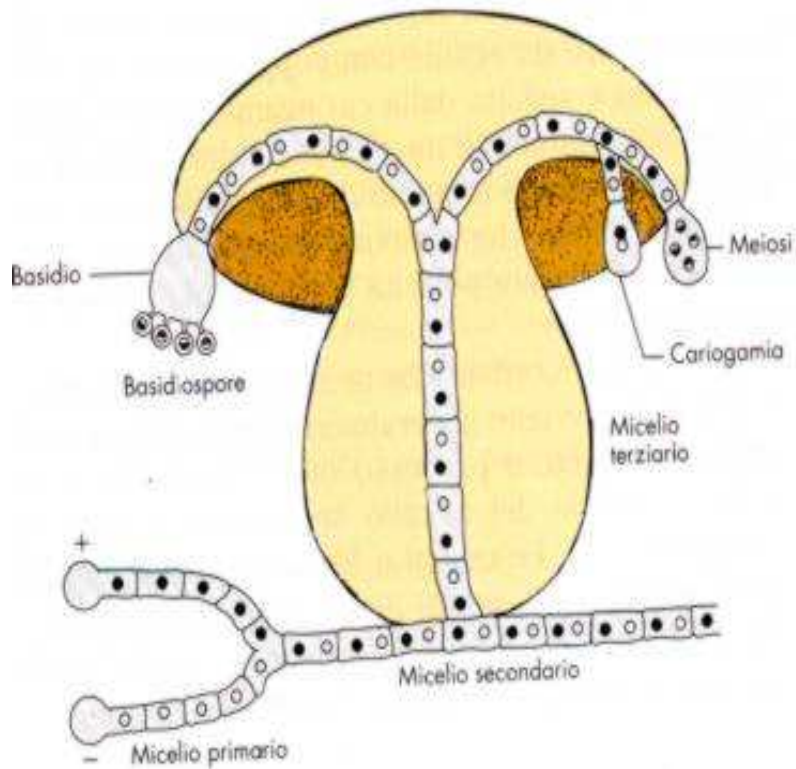
2) ascospore
3) germinazione delle ascospore

(da Rambelli 1981, ridisegnato)

nto di due
itosi, la
azione e
sione dei nuclei
. Le cellule
andranno
mitotica. Si
spore che
allo.

- Intorno all’asco si può sviluppare un fitto intreccio di ife a formare l’ascocarpo. Il carpo si chiama “cleistotecio” se è chiuso;“peritecio” se vi è un orofizio attraverso cui escono le ascospore; “apotecio” quando il carpo, a forma di coppa, presenta una larga apertura.

Basidiomycota

- Contiene circa 22.000 specie
- Funghi a tallo settato che si riproducono per basidiospore che si originano all'esterno di una struttura allungata, chiamata basidio.
- (Cryptococco, Trichosporon e Malassetia)

Riproduzione dei basidiomiceti

- Il tallo settato si fonde nelle porzioni apicali di ife sessualmente compatibili. La fusione nucleare però non avviene subito, ma può richiedere anni. Si hanno invece varie divisioni mitotiche. Quando i nuclei sono in procinto di dividersi si forma un'estroflessione che si congiunge ad arco in una posizione sottostante (clamp connection).

- Qui si ha fusione della parete cellulare, e il nucleo qui racchiuso procede verso la cellula ifale dell'altro sesso. Si ha cosi una cellula dicariota. Dopo vario tempo i nuclei appaiati si fondono in una cellula terminale rigonfia detta "basidio" in cui avviene la riduzione meiotica. Si producono quattro spore che rimangono attaccate al basidio mediante sterigmi, le basidiospore. Solitamente vengono eiettate alla maturità. Intorno al basidio può formarsi un basidiocarpo.

Struttura della cellula fungina

Strutture subcellulari dei miceti

- Capsula (presente solo in alcuni funghi)
- Parete cellulare
- Membrana cellulare
- Citoplasma

  Nucleo, membrana nucleare, nucleolo, ER, mitocondri, vacuoli

Tabella 64.2 Principali differenze tra funghi e batteri.

Caratteristica	Funghi	Batteri
Volume cellulare (μm^3)	Lieviti: 20-50 Muffe: non definibile, comunque di gran lunga maggiore di quello dei lieviti	1-5
Nucleo	Eucariotico (con membrana ben definita)	Procariotico (nessuna membrana)
Citoplasma	Mitocondri, reticolo endoplasmatico	Privo di mitocondri e di reticolo endoplasmatico
Membrana citoplasmatica	Contiene steroli	Priva di steroli (ad eccezione dei micoplasmi coltivati in presenza di steroli)
Parete cellulare	Glucani; mannani; chitina; complessi tra proteine e glucani e mannani Assenza di peptidi dell'acido muramico, di acidi teicoici o di acido diaminopimelico	Peptidi dell'acido muramico; acidi teicoici; alcuni possiedono residui di acido diaminopimelico Assenza di chitina, glucani e mannani
Metabolismo	Eterotrofi; aerobi o anaerobi facoltativi; non si conoscono autotrofi né anaerobi obbligati	Eterotrofi o autotrofi; aerobi e anaerobi obbligati e facoltativi
Dimorfismo	Caratteristica distintiva di molte specie	Assente (ad eccezione delle forme sporali)

[Modificata da: B.D. Davis, R. Dulbecco, H.N. Eisen, H. Ginsberg, *Microbiologia*, Zanichelli, Bologna, 1993.]

Tabella 64.3 Proteine GPI-CWP e relativi ruoli nell'aderenza.

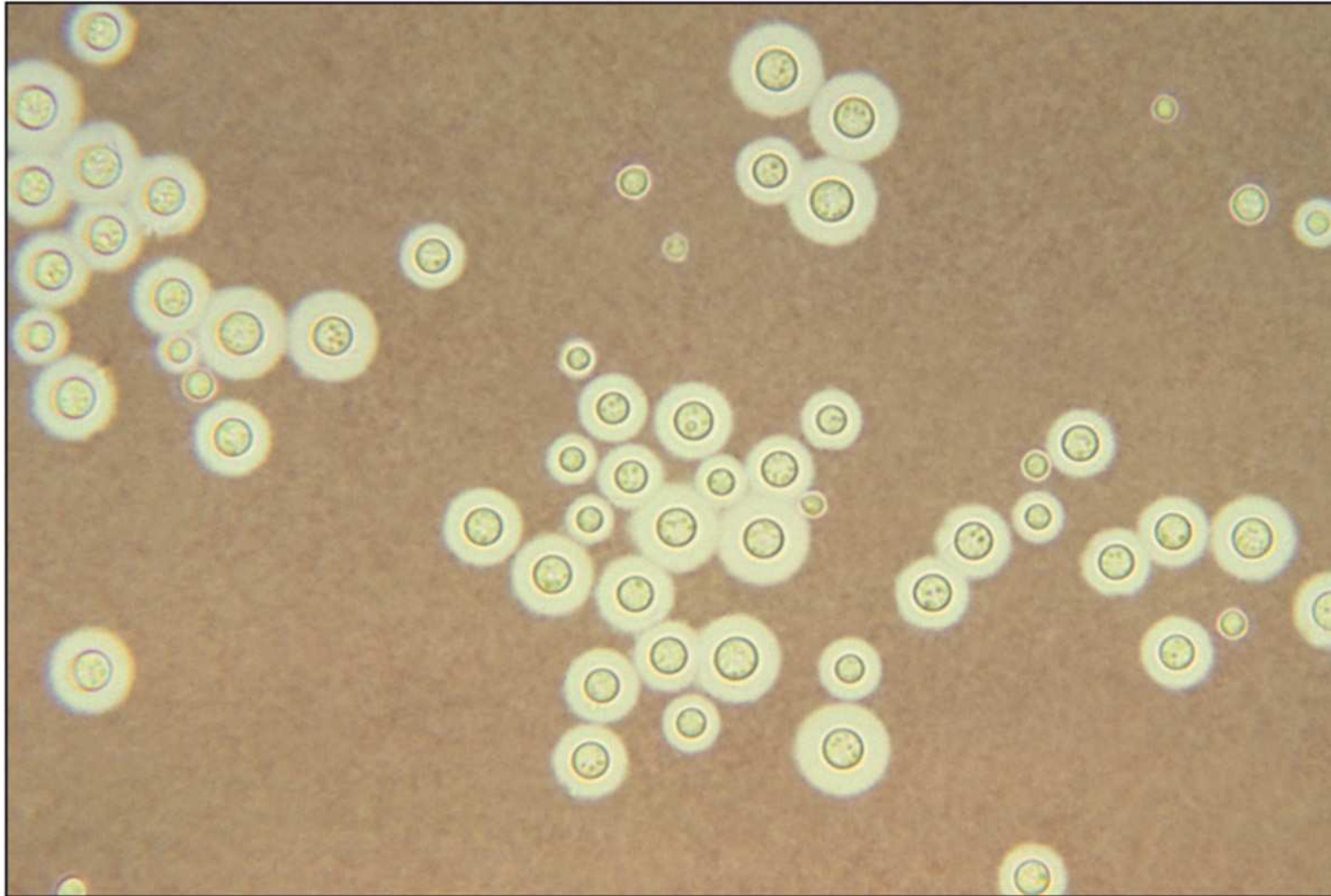
Tipo di adesina e microrganismo	Funzione
Saccharomyces cerevisiae	
Aga1, Sag1, Fig2	Agglutinazione sessuale
Flo1, Flo5, Flo9, Flo10	Flocculazione
Flo10	Filamentazione, flocculazione
Flo11	Crescita pseudo-ifale, filamentazione
Candida albicans	
Hwp1	Aderenza
Eap1	Aderenza
Als1	Aderenza, filamentazione
Als3, Als5, Als6	Aderenza
Candida glabrata	
Epa1, Epa7	Aderenza
Epa6	Aderenza, formazione di biofilm*

[Modificata da: J. Heitman *et al.*, *Molecular Principles of Fungal Pathogenesis*, 2006.]
*Per biofilm si intende una comunità microbica strutturata attaccata a una superficie e incassata in una matrice di materiale esopolisaccaridico. Il tipo di crescita in biofilm determina caratteristiche fenotipiche marcatamente differenti dalla crescita planctonica (libera), come l'incrementata resistenza agli agenti antimicrobici e alle difese dell'ospite.

CAPSULA

Struttura: Polisaccaridi

Funzioni: -Antifagocitica
-Fattore di virulenza

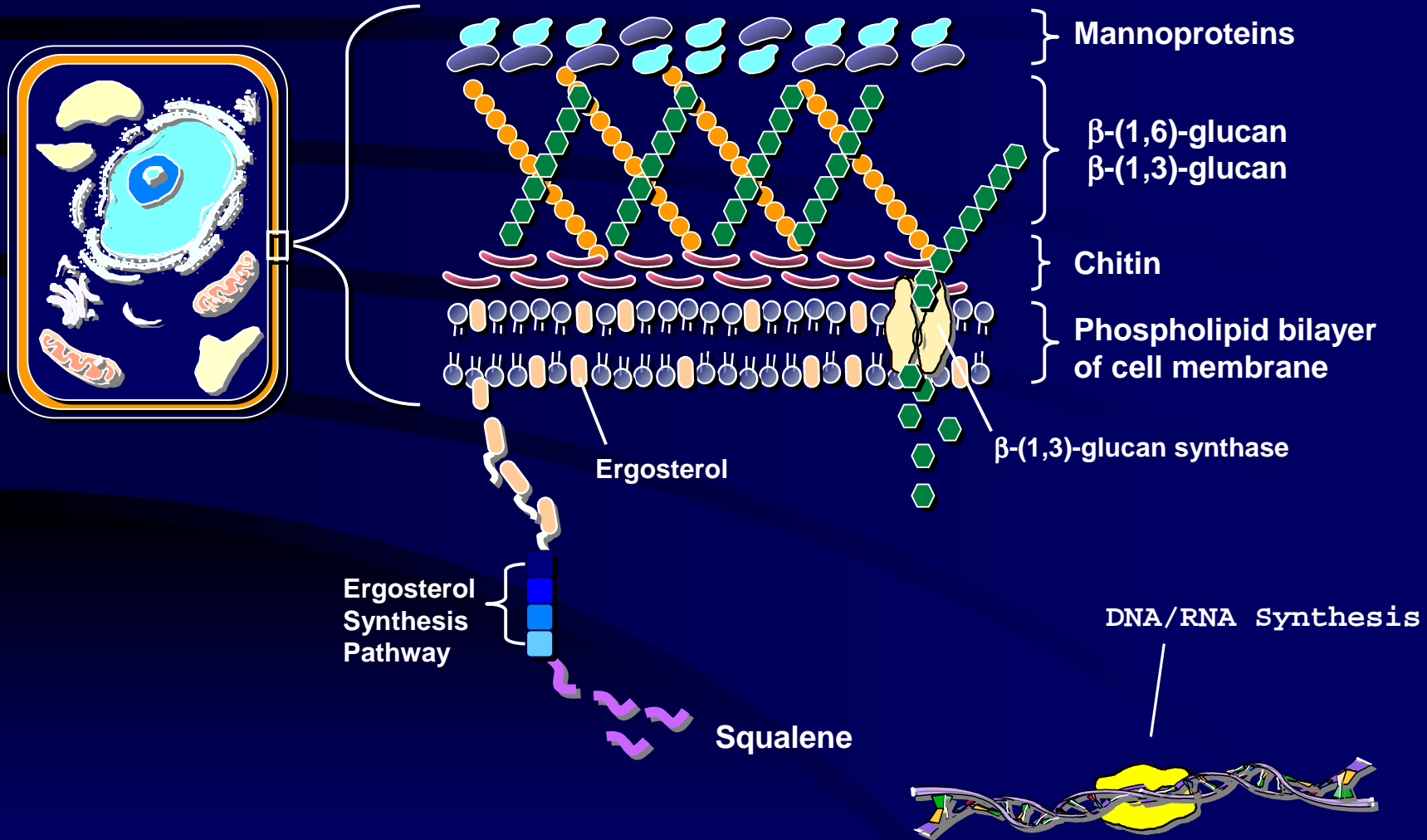
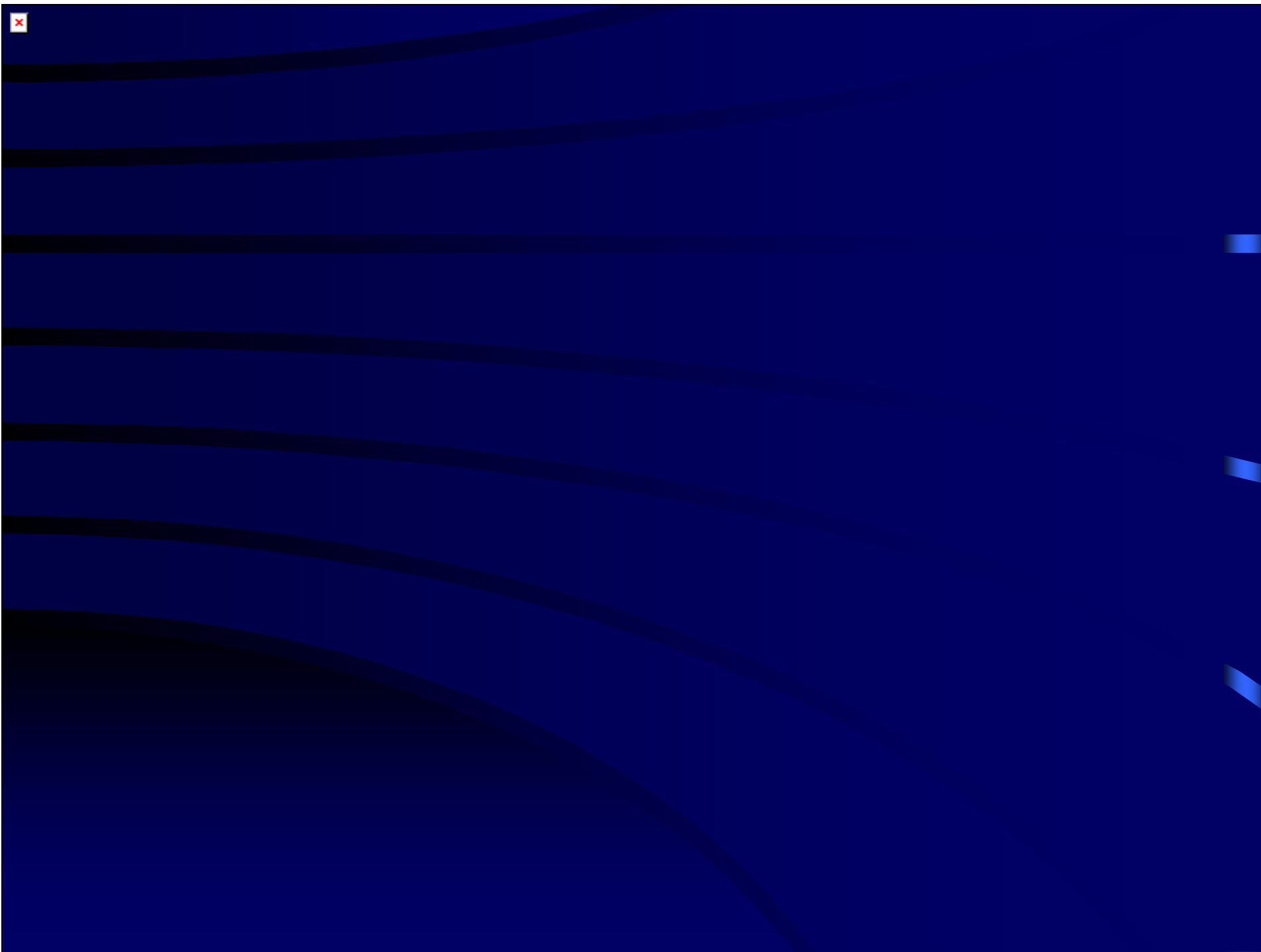
- Esiste solo in alcuni funghi
  Cryptococcus neoformans (lieviti capsulati)

PARETE CELLULARE

- Antigenica
- Struttura: Multistratificata

a. polisaccaridi (~90%): esosi e polimeri di esosamine

b. proteine e glicoproteine (~10%)

Funzioni:

Determina la forma, la rigidità, la resistenza e protegge dallo shock osmotico

Principali polisaccaridi della parete cellulare fungina

POLIMERI	MONOMERI
Chitina	N-acetyl glucosamina
Chitosano	D-Glucosamina
Cellulosa	D-Glucoso
α-Glucano	D-Mannoso
β-Glucano	
Mannano	

- Il tipo e la quantità di polisaccaridi varia fra una specie e l'altra.

Tabella 64.4 Composizione della parete di alcuni importanti patogeni fungini.

	Costituenti della parete			
Organismo	**β-Glucano**	**α-Glucano**	**Mannoproteine**	**Chitina**
Cryptococcus neoformans	15% (β-1,6; β-1,3)	35% (α -1,3; α -1,4)	Presenti	Presente
Saccharomyces cerevisiae	50% β-1,3; 10% β-1,6	Assente	40%	1-3%
Candida albicans	40% β-1,3; 20% β-1,6	Assente	35-40%	1-2%
Aspergillus fumigatus	70% β-1,3; 4% β-1,6; 10% β-1,3- β-1,4	Presente	3,5%	Presente
Paracoccidioides brasiliensis	Lievito 5% β-1,3; micelio β-1,3	Lievito 95% α -1,3; micelio scarso α -1,3	Forse presenti	Presente
Blastomyces dermatitidis	5%	95%	Forse presenti	Presente
Histoplasma capsulatum	Presente	Presente	Forse presenti	Presente

[Modificata da: I. Bose *et al.* (2003), «A yeast under cover: the capsule of *Cryptococcus neoformans*», *Eukariot. Cell*, 2, pp. 655-663.]

MEMBRANA CELLULARE

Struttura: Composta da due strati

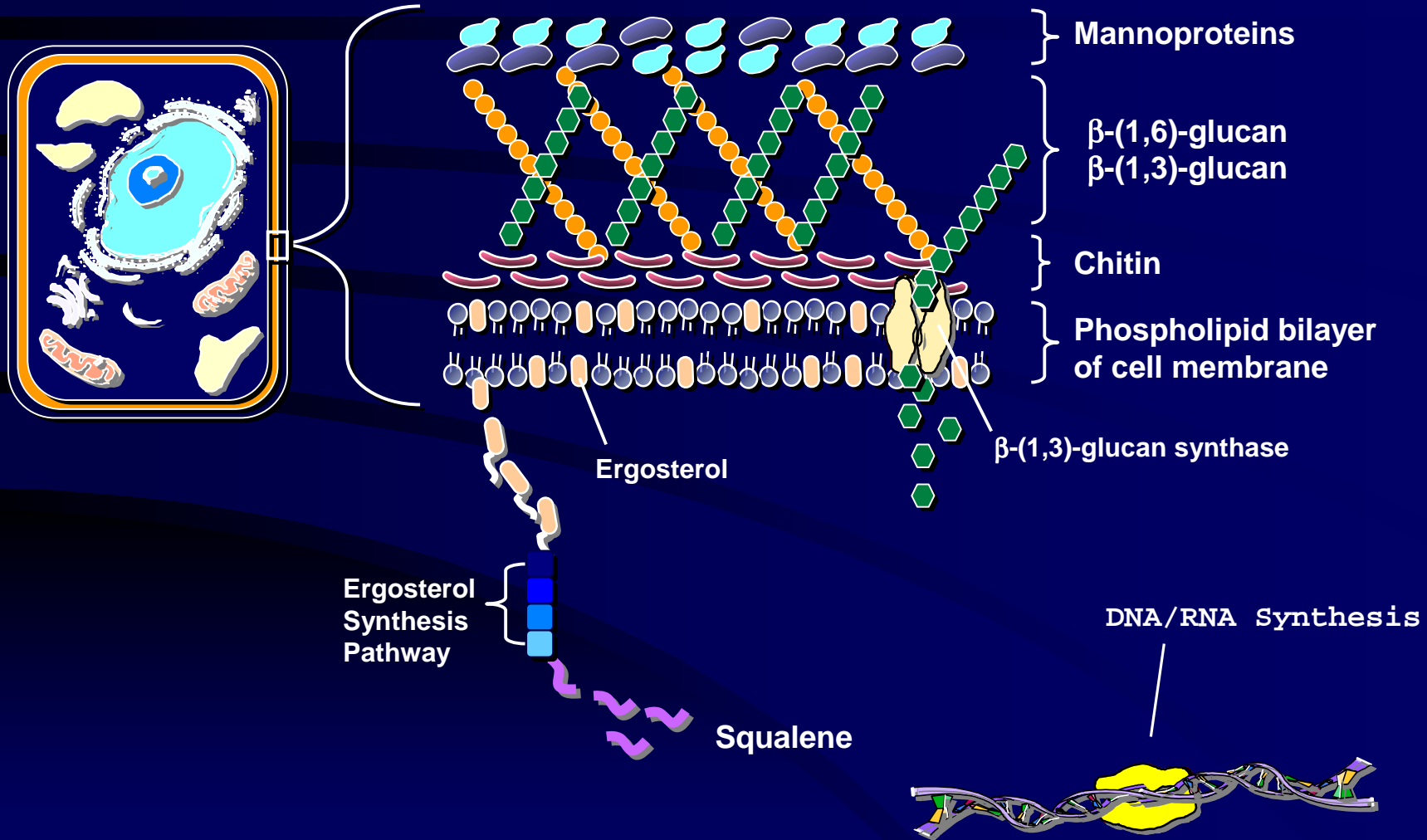
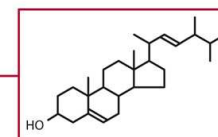
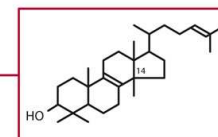
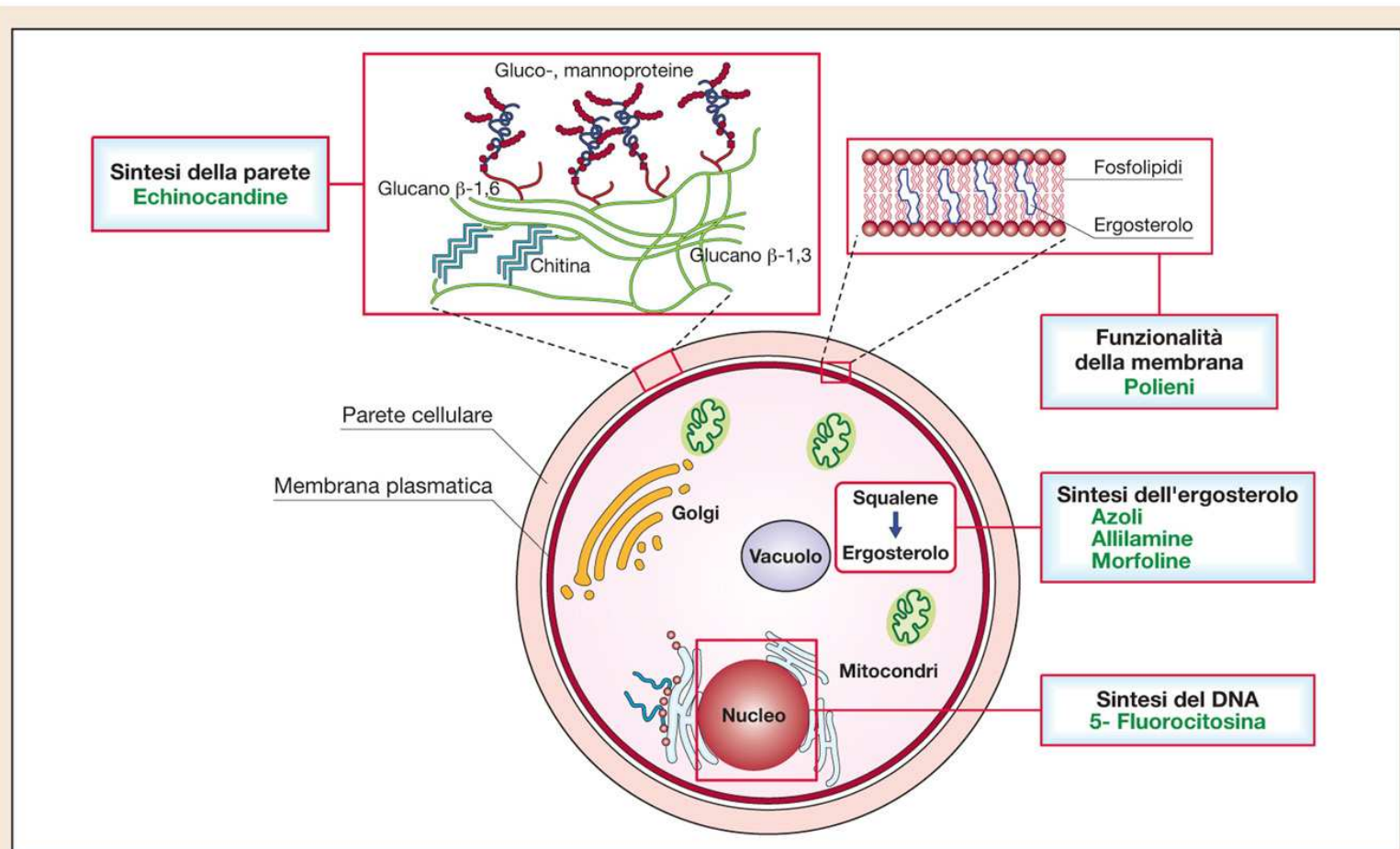
Fosfolipidi

Steroli (ergosterolo, zymosterolo)

Funzioni:

a. Protegge il citoplasma

b. Regola l'introduzione e la secrezione di soluti

c. Facilita la sintesi della capsula e della parete cellulare

Gene	Enzima	Intermedio di sterolo	Inibitori
		Squalene	
ERG1	Squalene epossidasi	↓	Allilamine
		2,3-Ossidosqualene	
ERG7	Lanosterolo sintetasi	↓	
		Lanosterolo	
ERG11 (CYP51)	Lanosterolo 14α-demetilasi	↓	Azoli
		4,4-dimetil-8, 14,24-trienolo	
ERG24	C-14 Sterolo reduttasi	↓	Morfoline
		4,4-dimetil zimosterolo	
ERG25	C-4 Sterolo metilossidasi	↓	
ERG26	C-4 Sterolo decarbossilasi	↓	
		4-metil zimosterolo	
ERG27	C-3 Sterolo chetoreduttasi	↓	
		Zimosterolo	
ERG6	C-24 Sterolo metil-trasferasi	↓	
		Fecosterolo	
ERG2	C-8 Sterolo isomerasi	↓	Morfoline
		Episterolo	
ERG3	C-5 Sterolo desaturasi	↓	
		Ergosta-5,7,24 (28) trienolo	
ERG5 (CYP61)	C-22 Sterolo desaturasi	↓	Azoli
		Ergosta-5,7,22,24 (28) tetraenolo	
ERG4	C-24 Sterolo reduttasi	↓	
		Ergosterolo	

Rappresentazione schematica di una cellula fungina e principali bersagli dei farmaci antifungini.